取食 Bt 棉与玉米的越冬代棉铃虫抗寒性特征比较

曹　婧[1,2]，欧阳芳[2]，戈　峰[2]，杨中侠[1,*]，肖铁光[1,*]

（1. 湖南农业大学植物保护学院，湖南长沙 410128；2. 中国科学院动物研究所，
农业虫害鼠害综合治理研究国家重点实验室，北京 100101）

摘要：【目的】针对由 Bt 棉花和玉米构成的华北农田景观，探讨不同寄主作物对棉铃虫 *Helicoverpa armigera* 越冬抗寒的影响。【方法】2013 年在河北廊坊科研中试基地的作物田中将棉铃虫幼虫接到 Bt 棉和玉米上，比较取食不同作物后棉铃虫的化蛹率、存活率和越冬蛹羽化率；在室内控制条件下分别用棉蕾和鲜玉米粒饲喂棉铃虫幼虫。测定滞育蛹和非滞育蛹的鲜重、干重、以及脂肪、糖原和低分子物质含量等指标，比较取食不同作物后棉铃虫的抗寒能力。【结果】取食玉米的棉铃虫滞育蛹干重(117.5 mg)、脂肪含量(457.2 μg/mg DW)以及海藻糖浓度(86.45 μg/g)均显著高于取食 Bt 棉的棉铃虫滞育蛹干重(56.6 mg)、脂肪含量(239.6 μg/mg DW)以及海藻糖浓度(13.87 μg/g)；取食玉米的棉铃虫冰点(–10.2℃)显著低于取食 Bt 棉的棉铃虫冰点(–6.5℃)。【结论】结果表明取食玉米更加有利于棉铃虫越冬。据历史数据，近年来玉米种植面积不断增加，这将提高棉铃虫成功越冬比率，对棉铃虫种群扩张起到促进作用，因此注重玉米上棉铃虫的防治尤为重要。

关键词：棉铃虫；Bt 棉花；玉米；滞育蛹；非滞育蛹；抗寒性；海藻糖

中图分类号：Q968　　**文献标识码**：A　　**文章编号**：0454-6296(2015)01-0045-08

Hardiness characteristics of the overwintering generation of *Helicoverpa armigera* (Lepidoptera: Noctuidae) feeding on Bt cotton and corn

CAO Jing[1,2], OUYANG Fang[2], GE Feng[2], YANG Zhong-Xia[1,*], XIAO Tie-Guang[1,*] (1. College of Plant Protection, Hunan Agricultural University, Changsha 410128, China; 2. State Key Laboratory of Integrated Management of Pest Insects and Rodents, Institute of Zoology, Chinese Academy of Sciences, Beijing 100101, China)

Abstract: 【Aim】From the perspective of the farmland landscape in north China composed of Bt cotton and corn, the research aims to explore the influence of different hosts on hardiness of the overwintering generation of *Helicoverpa armigera*. 【Methods】*H. armigera* larvae were inoculated on Bt cotton and corn in the field of scientific base in Langfang, Heibei, 2013. During this period, the pupation rate, diapause rate and emergence rate of overwintering pupae of *H. armigera* feeding on different types of crops were detected and compared. Indoors, *H. armigera* larvae were fed on buds of cotton and fresh corn kernels and then the hardiness of diapausing pupae and non-diapausing pupae were compared in terms of the fresh weight, dry weight, fat content, glycogen content, and contents of low molecular substances. 【Results】It was found that the diapausing pupae of *H. armigera* feeding on corn had obviously higher dry weight (117.5 mg *vs* 56.6 mg), fat content (457.2 μg/mg DW *vs* 239.6 μg/mg DW) and trehalose content (86.45 μg/g *vs* 13.87 μg/g), and lower freezing point (–10.2℃ *vs* –6.5℃) than the diapausing pupae feeding on Bt cotton ($P < 0.05$). 【Conclusion】The results indicate that corn is the ideal host for *H. armigera* to live through the winter in the field. According to the historical data, the planting area of corn has been increasing in recent years, which will facilitate the successful overwintering and population expansion of *H. armigera*. Therefore, it is significant to control *H. armigera* in corn field.

Key words: *Helicoverpa armigera*; transgenic cotton; corn; diapausing pupae; non-diapausing pupae; hardiness; trehalose

---

基金项目：国家自然科学基金项目(31200321)；国家科技支撑计划课题(2012BAD19B05)

作者简介：曹婧，女，1989 年 2 月生，湖南株洲人，硕士研究生，研究方向为农业昆虫与害虫防治，E-mail：caojing_12@163.com

* 通讯作者 Corresponding authors，E-mail：yzxmichelle@aliyun.com；tieguang@21cn.com

收稿日期 Received：2014-07-07；接受日期 Accepted：2014-12-16

棉铃虫 *Helicoverpa armigera* (Hübner) (Lepidoptera: Noctuidae) 是世界性的重要农业害虫之一，分布于亚洲、欧洲南部、中东、太平洋和东太平洋诸岛(Zalucki *et al*., 1994)，主要危害棉花、玉米等农作物。在我国华北地区，棉铃虫一年发生 4～5 代，以滞育蛹越冬，从而构成第 2 年的有效越冬虫源 (Luttrell *et al*., 1994; Guo, 1997)。显然，棉铃虫越冬代滞育蛹的密度是翌年棉铃虫发生的虫源基础，其越冬蛹羽化率直接影响翌年第 1 代棉铃虫卵和幼虫的数量(Ge *et al*., 2005)。因此，探讨越冬代棉铃虫种群动态的影响因素，是有效开展棉铃虫综合治理的基础。

昆虫作为地球上历史久远的变温动物，更能适应地球多变的气候和天气，它们会采取不同的生存对策(Danks *et al*., 2007)，抵御低温，度过寒冷的冬季，完成繁殖后代、延续世代过程(Liu *et al*., 2007)。其中，滞育是大多数昆虫避开不利物候而采取的季节性适应策略(Tauber *et al*., 1986)。比如,我国南京地区棉铃虫 9 月至 12 月中旬滞育,12 月中旬至次年 3 月中旬休眠,次年 3 月逐渐复苏、正常发育(蒋明星,1997)。经过滞育和休眠的棉铃虫蛹在低温下的存活率显著高于非滞育蛹(吴孔明,1997)。诱导棉铃虫滞育的主要因素有光周期和温度(吴孔明, 1995)；在相同光周期和温度下，不同寄主对棉铃虫抗寒能力有影响,取食常规棉的棉铃虫抗寒能力高于取食玉米,而取食 Bt 棉会使棉铃虫滞育蛹抗寒能力下降(杨燕涛等, 2003),从而影响越冬存活率，进而影响越冬代棉铃虫的种群数量(Liu *et al*., 2007)。但目前还没有人研究取食 Bt 棉与取食玉米的棉铃虫抗寒性的差异。

自 1997 年以来，Bt 棉逐步取代常规棉，与玉米共同成为华北地区最主要的农作物，也成为越冬代棉铃虫的主要食物。我们之前的研究结果表明，与常规棉相比，Bt 棉对棉铃虫越冬代种群数量起到明显的抑制作用(Ouyang *et al*., 2011)。那么，在当前 Bt 棉和玉米田间共同种植的新农田种植格局中，两种作物对越冬代棉铃虫的抗寒能力以及种群数量的影响是否有差异,目前未有研究。针对这个科学问题，本研究通过室内饲养和田间接虫试验，比较越冬代棉铃虫取食 Bt 棉和玉米后的化蛹率和滞育率，分析低温条件下取食 Bt 棉和玉米的越冬代棉铃虫在的存活率和羽化率，探讨 Bt 棉与玉米共存形成的农田景观格局下棉铃虫的越冬抗寒特性,为提出相适应的棉铃虫防治对策提供依据。

1 材料与方法

1.1 供试棉花品种与栽培及试验田

本实验使用作物包括:(1) Bt 棉:转基因棉花(GK12)，含 Bt 基因 *Cry1A* (1 824 bp GM *Cry1A*, *Cry1Ab* 和 *Cry1Ac* 的融合基因)，由中国农业科学院生物技术研究所和山东省梁山县种子公司联合提供；(2) 玉米：品种纪元 1 号，由中国种子集团爱农实业有限公司提供。

Bt 棉和玉米种植在河北省廊坊市九州镇炊庄的中国农业科学院廊坊科研中试基地内(39.538°N, 116.708°E)。2013 年 4 月 28 日播种，每个品种 0.1 ha (20 m×50 m)，地膜覆盖，株距 0.26 m，行距 0.46 m。使用常规栽培管理(灌溉和人工除草)，全生长季节内仅在 6 月 2 日和 7 月 6 日使用吡虫啉防治棉蚜和玉米蚜。所育的 Bt 棉苗和玉米苗，一部分作为食材，在室内饲喂棉铃虫，另一部分作为田间试验的寄主植物。Bt 棉花和玉米分别设置 3 个小区(3 个重复)。

1.2 供试棉铃虫

供试棉铃虫种群均来源河南省济源市,由中国科学院动物研究所生物农药中试基地提供。

1.3 棉铃虫的室内饲养

用 Bt 棉 GK12 的棉蕾和鲜玉米粒分别饲养棉铃虫幼虫，再观察棉铃虫的化蛹率、滞育率以及在低温条件下的存活率。2013 年 8 月份，从中国科学院动物研究所生物农药中试基地获得约 2 000 头棉铃虫 2 龄幼虫。将刚孵化的幼虫在 24 孔塑料盒(2.0 cm×2.0 cm×2.5 cm)中采用人工食料饲养，其生长环境条件：温度为 25℃，光周期为14L∶10D，相对湿度为控制在 80%～90% 之间。为防止互相残杀，棉铃虫幼虫生长到 2 龄末，采用玻璃单管(2.0 cm×8.0 cm)饲养。分别用 Bt 棉的新鲜棉蕾和鲜玉米粒饲养棉铃虫幼虫，每个处理 5 个重复，每个重复约 200 头幼虫，每天更换食物直到化蛹。其生长环境条件设置：温度为 20℃，光周期为 14L∶10D，相对湿度为控制在 80%～90% 之间。在此条件下可诱导棉铃虫越冬滞育。每天记录棉铃虫的发育历期、化蛹率和滞育率。化蛹后第 10 天，判定是否滞育并称蛹重。为模拟田间越冬环境，越冬滞育蛹埋入野外实验地 10 cm 的土中。同时记录 10 cm 土壤层的温度。11 月份，从地里挖掘出一部分蛹，用来检测越冬开始时，转基因棉花对棉铃虫

越冬种群抗寒生理的影响。

1.4　田间接虫

2013 年 8 月 8 日开始，分别在种 Bt 棉和玉米的小区上接种棉铃虫 2 龄末幼虫，观测棉铃虫种群在不同寄主上的化蛹率和滞育率。每个接虫日期在每种作物上分别设置 3 个小区(3 个重复)，每个小区用网罩罩住棉花，防治棉花上棉铃虫的逃逸并避免外来因素的干扰。网罩规格(5 m×3 m×2 m)，每个网罩内包含 40～50 株棉花植株。每个网罩小区的棉花上接种 200 头幼虫。同样，之后的接虫日期依次为 8 月 14 日、8 月 20 日、9 月 1 日和 9 月 8 日。在每个接虫日期 20 d 后，调查每个网罩内地面上棉铃虫化蛹的数量，挖掘并观察 30 cm 厚度的地表土壤层并记录化蛹数，将蛹放入室内条件下观察是否发生滞育，同时计算每个接虫日期每种作物每个小区的化蛹率和滞育率。

越冬滞育的判断标准：采用以下两个指标判断，眼点停留在化蛹时位置的时间长短和蛹腹部脂肪体的状况(Liu *et al.*, 2007)。在 20℃下，正常发育蛹眼点移动的平均时间不超过 5 d，以此值的 2 倍，即化蛹后第 10 天眼点仍未动者作为其进入滞育的标准。同时用放大镜(10×)观察蛹腹部脂肪体是否呈颗粒状作为判断滞育的辅助指标。

1.5　滞育蛹低温条件下的存活率

为模拟越冬代棉铃虫在自然情况下的越冬环境条件，分别用 Bt 棉和玉米饲养棉铃虫幼虫，2013 年 10 月 24 日将每个处理约 100 头滞育蛹埋于室外实验地下，每天记录 10 cm 深处土壤的最高、最低温度及大气温度。4 个月后，即 2014 年 2 月 24 日，将埋在土壤中的越冬滞育蛹掘出，在 20℃的室温下放置 2 d，让其复苏。当受刺激时，以腹部是否摆动为标准判断蛹的存活。计数两个处理的存活率。

1.6　越冬蛹蛹重及含水量的测定

取各组越冬蛹若干头，用电子天平(精度 0.01 mg)称量鲜重(FW)，然后将越冬蛹放于 60℃的烤箱中 72 h，称量干重(DW)。含水量根据鲜重和干重比例计算而得。

1.7　脂肪和糖原含量的测定

脂肪含量的测定：取测完蛹含水量的干蛹(DW)，加入 2 mL 氯仿和甲醇的混合液(氯仿: 甲醇 =2: 1，v/v)，研磨匀浆；2 600 g 离心 10 min，移去上清液，残渣再加入 2 mL 氯仿和甲醇的混合液，重复离心一次；在 60℃的烤箱中烘烤 72 h 至恒重(LDW)；测脂肪重(DW－LDW)和脂肪含量([(DW－LDW)/DW]×100%)(Ouyang *et al.*, 2011)。

糖原含量的测定：参考酚-硫酸方法(Dubois *et al.* 1956；Ouyang *et al.*, 2011)。将越冬蛹称重；加入 2 mL 的 70% 乙醇，研磨匀浆；2 600 g 离心 10 min，除去上清液，重复离心一次；加入 2 mL 的 10%(v/v)的三氯乙酸，此混合液在沸水中煮沸 15 min，冷却后 3 000 g 离心 15 min 上清液用于糖原测定。加入样本 0.5 mL，苯酚(5%)0.5 mL，浓硫酸 H_2SO_4 2.5 mL，加入蒸馏水 3 mL，稀释至 14 mL；静止 10 min，摇匀，加热 20 min，冷却；吸收峰在 DU650 紫外分光光度计 490 nm 处测定。

1.8　过冷却点的测定

每组取若干头越冬蛹，将越冬蛹固定在热敏电阻探头上，另一端与四路昆虫过冷却点测试系统(江苏森意经济发展有限公司)相连。将固定越冬蛹的探头放入－30℃的低温冰箱中，昆虫过冷却点测试系统通过计算机软件开始记录虫体表温度的变化。开始虫体的温度持续下降，直到虫体开始结冰，虫体释放潜热，温度陡然上升，释放潜能的起点处记录的温度即为过冷却点；虫体温度继续回升，直到再次下降，此转折点记录的温度即为冰点(freezing point)(Ouyang *et al.*, 2011)。

1.9　蛹体液中抗冻低分子物质含量的测定

采用硅烷化衍生物改进的气象色谱测定方法分析：从每个越冬蛹取 10 μL 血淋巴加入到含有 0.4 mL 79%(v/v)乙醇(含 10 μg 赤鲜糖做内标)的离心管中匀浆。上清液置于－20℃的冰箱保存；分析前将样液在 40℃的条件下用氮气吹干；在剩余物中分别加入 25 μL 二甲基酰胺和含羟胺的吡啶溶液，在 70℃的水浴中加热 15 min；在反应混和物中加入 75 μL 的二甲基酰胺和 30 μL 的三甲基硅烷基咪唑，在 80℃的水浴中加热 15 min 完成硅烷化反应；用异辛烷萃取衍生物；用微量注射器取 1 μL 萃取液注入气相色谱仪(Agilent 7890 GC)进行定量分析。气相色谱所用载气为氮气，检测器为氢离子焰，检测器温度为 300℃，进样室温度为 280℃，温度程序为 120℃停留 1 min，上升速率为 10℃/min 到 280℃停留 30 min(Ouyang *et al.*, 2011)。

1.10　统计分析

采用 SPSS 20.0(SPSS Inc. Chicago, IL, USA)统计分析软件分析处理实验数据。幼虫取食不同作物的蛹含水量、脂肪含量、糖原含量、过冷却点、抗冻低分子糖醇(海藻糖、甘油、肌醇、葡萄糖、半乳糖、山梨醇、甘露糖等)含量平均值的差异显著性采用

独立样本 t 检验(independent samples t test)。越冬代棉铃虫低温条件下滞育蛹的存活率和羽化率的差异显著性采用卡方检验(χ^2 test)。

2 结果与分析

2.1 取食 Bt 棉和玉米对越冬代棉铃虫化蛹率和滞育率的影响

取食玉米和 Bt 棉的棉铃虫化蛹率(图 1: A)分别为 30.89% 和 6.21%，前者为后者的 5 倍，差异极显著(t = -5.987, df = 7, P = 0.001,)；蛹滞育率(图 1: B)分别为 45.66% 和 35.51%，前者为后者的 1.3 倍，差异显著(t = -2.984, df = 7, P = 0.020)；越冬蛹羽化率率(图 1: C)分别为 14.18% 和 2.22%，前者为后者的 6 倍，差异极显著(t = -5.892, df = 7, P = 0.001)。

2.2 取食 Bt 棉和玉米的棉铃虫越冬前能量储备情况

如图 2 所示，用 Bt 棉饲喂的棉铃虫滞育蛹平均鲜重(227.6mg)显著小于用玉米饲喂的棉铃虫滞育蛹的平均鲜重(287.77 mg)(t = -2.488, P = 0.032, df = 10)；用 Bt 棉的饲喂的棉铃虫非滞育蛹的平均鲜重(181.8 mg)显著小于用玉米饲喂的棉铃虫非滞育蛹的平均鲜重(250.39 mg)(t = -2.755, P = 0.022, df = 9)；用 Bt 棉饲喂的棉铃虫滞育蛹平均干重(56.6mg)也显著小于用玉米饲喂的棉铃虫滞育蛹平均干重(117.5 mg)(t = -5.16, P = 0.00, df = 10)。用 Bt 棉饲喂的的棉铃虫非滞育平均干重(45.6 mg)显著小于用玉米的棉铃虫非滞育平均干重(90.2mg)(t = -5.664, P = 0.00, df = 10)。同取食玉米的滞育蛹和非滞育蛹干重差异显著(t = 2.305, P = 0.044, df = 10)。

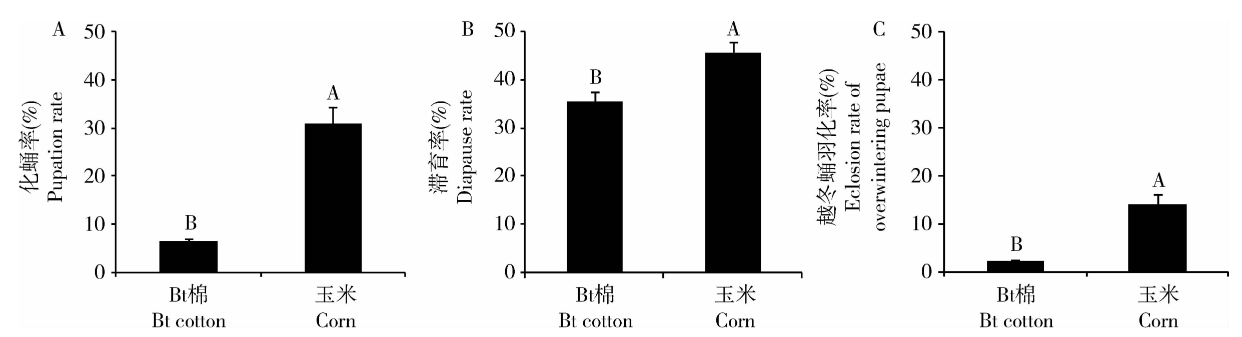


图 1 取食 Bt 棉和玉米的越冬代棉铃虫化蛹率(A)、蛹滞育率(B)、越冬蛹羽化率(C)比较

Fig. 1 Comparison of the pupation rate (A), diapause rate (B) and eclosion rate of the overwintering pupae (C) of the overwintering generation of *Helicoverpa armigera* feeding on Bt cotton and corn

图中数据为平均值 ± 标准误；柱上不同大写字母表示取食不同作物之间的差异，3 次重复，每个重复 200 头，独立样本 T 检验，P < 0.05。Data in the figure are mean ± *SE*. Different uppercases above bars indicate significant differences between feeding on different crops, and 3 replicates for every experimental treatment and 200 samples for every replication (P < 0.05 independent samples T test).

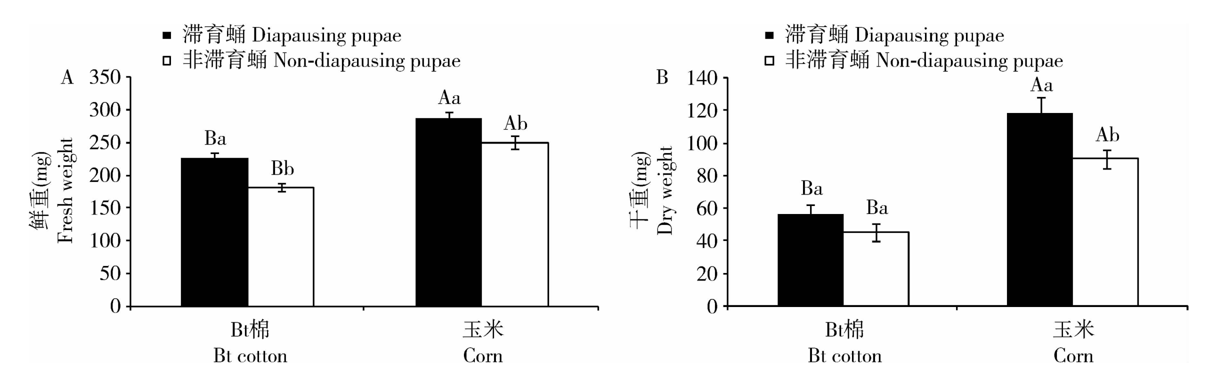


图 2 取食 Bt 棉和玉米的越冬代棉铃虫滞育蛹和非滞育蛹鲜重(A)和干重(B)的比较

Fig. 2 Comparison of the fresh weight (A) and dry weight (B) of diapausing and non-diapausing pupae of the overwintering generation of *Helicoverpa armigera* feeding on Bt cotton and corn

图中数据为平均值 ± 标准误；柱上不同小写字母表示取食同种作物棉铃虫滞育蛹和非滞育蛹之间的差异，不同大写字母表示取食不同作物滞育蛹或非滞育蛹之间的差异(P < 0.05，独立样本 T 检验)；图 4 和 5 同。Data in the figure are mean ± *SE*. Different lowercase letters above bars show significant difference between diapausing and non-diapausing pupae of overwintering *H. armigera* feeding on the same crop, and different uppercase letters above bars indicate significant differences in diapausing or non-diapausing pupae of overwintering *H. armigera* between feeding on Bt cotton and corn (P < 0.05, independent samples T test). The same for Figs. 4 and 5.

2.3　不同寄主上越冬代棉铃虫滞育蛹低温存活率

取食 Bt 棉的棉铃虫低温下存活率为 27.12%（N = 59），取食玉米的存活率为 52.5%（N = 40），二者存在显著差异（χ^2 = 6.561，P = 0.012）（图 3）。

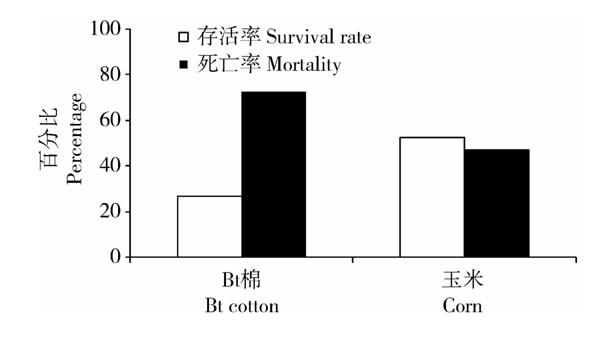


图 3　取食 Bt 棉和玉米的越冬代棉铃虫蛹低温存活率

Fig. 3　Survival rate of pupae of the overwintering generation of *Helicoverpa armigera* feeding on Bt cotton and corn at low temperature

图中 N 表示样本重复数。N is the number of replicates.

2.4　取食 Bt 棉和玉米的棉铃虫滞育蛹和非滞育蛹含水量、总脂肪和糖原含量

取食 Bt 棉的棉铃虫滞育蛹含水量为 74.8%，非滞育蛹含水量为 79.6%，取食玉米的棉铃虫滞育蛹含水量为 61.1%，非滞育蛹含水量为 66.2%。由图 4 可知，取食不同作物的棉铃虫滞育蛹含水量存在显著差异（t = 3.524，P = 0.005，df = 10），非滞育蛹含水量存在极显著差异（t = 5.234，P = 0.000，df = 10）。

取食不同作物的棉铃虫，在生理方面表现出较大的不同。除测定含水量外，还分别测定了取食不同作物的棉铃虫滞育蛹和非滞育蛹的脂肪含量、糖原含量等生理指标，结果如图5所示。取食Bt棉

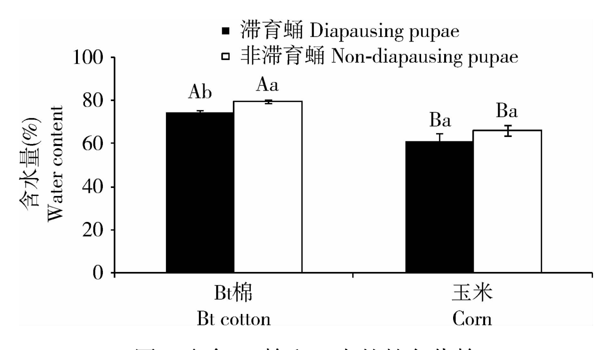


图 4 取食 Bt 棉和玉米的越冬代棉铃虫滞育蛹和非滞育蛹含水量

Fig. 4　Water content of diapausing and non-diapausing pupae of the overwintering generation of *Helicoverpa armigera* feeding on Bt cotton and corn

的棉铃虫滞育蛹脂肪含量为 239.6 μg/mg DW，非滞育蛹的脂肪含量为 247.1 μg/mg DW（图 5：A）。取食玉米的滞育蛹脂肪含量为 457.2 μg/mg DW，非滞育蛹脂肪含量为 413.8 μg/mg DW（图 5：A）。取食玉米的棉铃虫滞育蛹脂肪含量（μg/mg DW）显著高于取食 Bt 棉的棉铃虫滞育蛹脂肪（μg/mg DW）含量（t = −5.347，P < 0.001，df = 10）（t = −5.56，P < 0.001，df = 10）（图 5：A）。

取食 Bt 棉的棉铃虫滞育蛹糖原含量（116.2 μg/mg DW）和非滞育蛹的糖原含量（48.5 μg/mg DW）差异极显著（t = 5.879，P = 0.000，df = 10），取食玉米的滞育蛹糖原含量（82.8 μg/mg DW）和非滞育蛹糖原含量（61.8 μg/mg DW）无显著差异（t = 1.036，P = 0.33，df = 8）（图 5：B）。取食玉米的滞育蛹糖原含量都显著低于取食 Bt 棉的（t = 3.534，P = 0.005，df = 10）（t = 3.155，P = 0.012，df = 9）（图 5：B）。

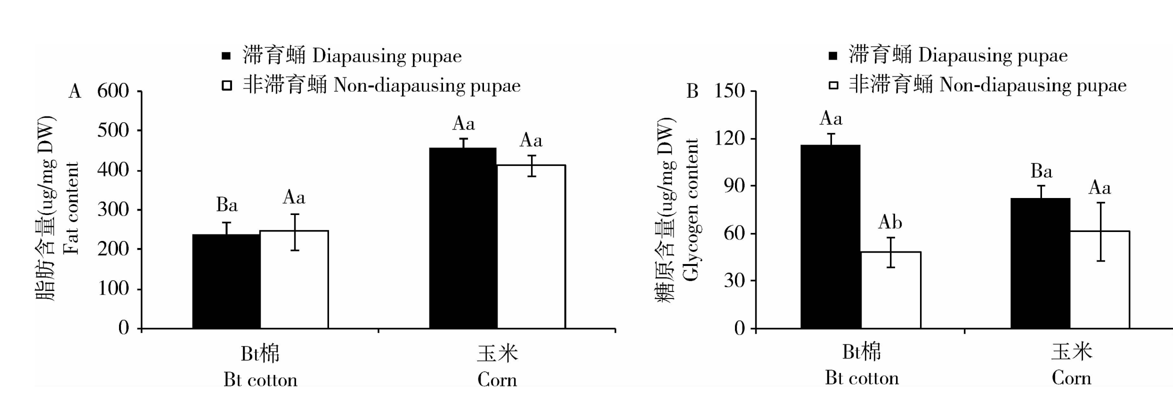


图 5 取食 Bt 棉和玉米的越冬代棉铃虫滞育蛹和非滞育蛹含脂肪（A）和糖原含量（B）

Fig. 5　Fat content（A）and glycogen content（B）of diapausing and non-diapausing pupae of the overwintering generation of *Helicoverpa armigera* feeding on Bt cotton and corn

2.5 取食不同寄主的棉铃虫越冬蛹低分子量物质浓度测定

通过测定了取食不同作物的棉铃虫越冬代滞育蛹和非滞育蛹的 7 种低分子物质(海藻糖、甘油、肌醇、葡萄糖、半乳糖、山梨醇和甘露糖)浓度，发现棉铃虫蛹中海藻糖浓度明显高于其他 6 种低分子物质(表1)。由表 1 结果可知，取食玉米的棉铃虫滞育蛹海藻糖含量为 86.45 mg/mL，取食 Bt 棉的棉铃虫滞育蛹海藻糖含量为 13.87 mg/mL。取食玉米的棉铃虫滞育蛹中海藻糖含量显著高于取食 Bt 的滞育蛹($P<0.05$)。

表 1 取食 Bt 棉和玉米的棉铃虫越冬蛹低分子量物质浓度(mg/mL)

Table 1 Concentrations of low molecular weight substances (mg/mL) in overwintering pupae of *Helicoverpa armigera* feeding on Bt cotton and corn

寄主植物 Host plants	越冬蛹 Overwintering pupae	甘油 Glycerin	甘露糖 Mannose	山梨醇 Sorbitol	葡萄糖 Glucose	半乳糖 Galactose	肌醇 Inositol	海藻糖 Trehalose
Bt 棉 Bt cotton	滞育蛹 Diapusing pupae	0.21 ±0.05(5)a	0.15 ±0.05(2)a	0.23 ±0.15(3)a	0.24 ±0.06(3)a	0.10 ±0.03(3)a	0.27 ±0.02(3)a	13.87 ±5.32(5)a
	非滞育蛹 Non-diapausing pupae	0.59 ±0.18(3)a	0.15 ±0.01(3)a	0.27 ±0.14(3)a	4.01 ±2.90(3)a	1.21 ±0.70(3)a	0.27 ±0.07(3)a	43.50 ±6.72(3)a
	P	0.045	0.863	0.851	0.264	0.19	0.945	0.014
玉米 Corn	滞育蛹 Diapusing pupae	0.76 ±0.45(8)a	0.12 ±0.01(8)a	0.29 ±0.17(3)a	0.51 ±0.24(8)a	0.34 ±0.11(7)a	0.93 ±0.21(8)a	86.45 ±14.7(7)b
	非滞育蛹 Non-diapausing pupae	1.01 ±0.82(4)a	0.23 ±0.06(4)a	0.34 ±0.06(2)a	2.94 ±2.28(5)a	1.12 ±0.58(5)a	0.57 ±0.17(5)a	23.75 ±7.81(5)a
	P	0.774	0.015	0.819	0.199	0.15	0.264	0.008

不同小写字母表示取食不同作物的滞育蛹或非滞育蛹之间差异显著($P<0.05$)，P 表示取食同种作物滞育蛹和非滞育蛹之间的差异(独立样本 T 检验)；括号内的数字表示样本重复数。Different lowercase letters following the data indicate significant differences in diapausing or non-diapausing pupae of the overwintering *H. armigera* between feeding on Bt cotton and corn at the 0.05 level; the P value show the significance of difference between diapausing and non-diapausing pupae of the overwintering *H. armigera* feeding on the same crop (independent-samples T test). The number in brackets indicates the number of samples tested.

2.6 取食 Bt 棉和玉米的棉铃虫过冷却点和冰点

由图 6 可知，测得取食 Bt 棉和玉米的棉铃虫的过冷却点分别为 −16.8℃和 −17.3℃，冰点分别为 −6.5℃和 −10.2℃，存在显著差异。取食玉米的棉铃虫冰点显著低于取食 Bt 棉的棉铃虫($t=3.271$, $P=0.002$, $df=85$),这一检测直接说明，取食玉米的棉铃虫抗寒能力比取食 Bt 棉的棉铃虫更强。

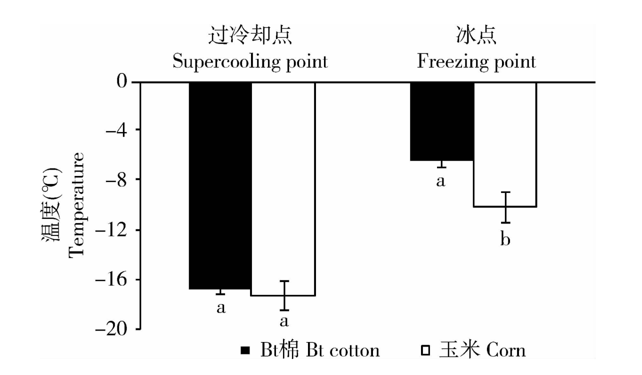


图 6 取食 Bt 棉和玉米的越冬代棉铃虫过冷却点和冰点

Fig. 6 Supercooling point and freezing point of the overwintering generation of *Helicoverpa armigera* feeding on Bt cotton and corn

3 讨论

本研究表明，取食玉米的越冬代棉铃虫化蛹率、滞育率及越冬蛹羽化率均显著高于取食 Bt 棉的棉铃虫。这说明玉米比 Bt 棉更适合棉铃虫的生长，对其个体繁殖和种群发展更加有利。从低温存活率看，取食玉米的棉铃虫滞育蛹存活率相对较高,且比取食 Bt 棉的棉铃虫更耐低温。从生理层面进一步剖析这一现象的原因，发现取食玉米的棉铃虫越冬前无论是鲜重，还是干重，都大于取食 Bt 棉的棉铃虫,说明取食玉米的棉铃虫越冬前能量储备更高。另外,脂肪和糖原是昆虫冬季抵御寒冷的重要能量物质，昆虫越冬御寒需要消耗大量的热量，脂肪和糖原含量越多，储备的热量就越多，长时间抵御寒冷的能力越强。滞育期间，依靠之前贮存的脂肪、糖原等物质维持其代谢(Chen *et al.*, 2014)。从营养层面分析，造成能量储备差异的原因可能是，玉米的蛋白含量高，容易被吸收利用，比 Bt 棉更有利于棉铃虫生长发育。据此我们推测除临界光周期

外，棉铃虫进入滞育可能还存在一个营养物质积累阈值，这一推测需进一步实验验证。从含水量看，取食玉米的棉铃虫，越冬前储备的脂肪、糖原含量高于取食 Bt 棉的棉铃虫，而含水量却低于取食 Bt 棉的棉铃虫，含水量少使得玉米上的棉铃虫体液不易结冰，比 Bt 棉上的棉铃虫成功越冬的机率更高，成为第 2 年的有效虫源的可能性越大。

昆虫体内有多种低分子物质，在外部环境发生大的变化时，这些物质的功能被激活，保护虫体，帮助昆虫度过不良环境（崔龙等，1998；冯宇倩等，2014）。其中海藻糖在昆虫越冬过程中发挥着非常重要的作用（张玉华，2005；崔淑燕等，2008；于彩虹，2008）。从本研究结果看，取食玉米的棉铃虫滞育蛹中海藻糖含量显著高于取食 Bt 棉的滞育蛹，说明取食玉米可能使棉铃虫获得或合成更多的海藻糖，从而提高其抗逆能力。除海藻糖外，取食玉米的棉铃虫蛹中，甘油、肌醇、葡萄糖、半乳糖、山梨醇、甘露糖等其他低分子物质含量也高于取食 Bt 棉的虫蛹，这些抗冻低分子物质对棉铃虫抵抗不利环境，也有一定的帮助。本研究结果表明，取食玉米的棉铃虫蛹含水量低于取食 Bt 棉的棉铃虫蛹，前者的过冷却点、冰点也比后者更低，这些结果都直接说明取食玉米的棉铃虫抗寒、抗冻能力均比取食 Bt 棉的棉铃虫强。但海藻糖及其他低分子物质在棉铃虫体内的代谢合成途径及抗寒作用机理仍待进一步研究。

丁岩钦等（1994）研究表明，玉米和常规棉的种植比例是影响棉田第 3 代棉铃虫的主动因素（系统变化时对它影响很小，但它本身对整个系统影响很大），玉米种植面积比例越大，常规棉上的第 3 代棉铃虫卵越少，相反，玉米种植面积越小，常规棉第 3 代棉铃虫卵就越多，说明玉米能吸引很大一部分棉铃虫。叶乐夫等（2011）用稳定同位素技术分析华北部分地区第 3 代棉铃虫的虫源性质，发现第 3 代棉铃虫成虫有 40.5% ~56.8% 来自于 C4 植物（玉米）。以上两项研究都表明，当棉花和玉米同时种植时，玉米会吸引大量的棉铃虫。在华北农区，第 3 代与第 4 代棉铃虫寄主相似，以棉花和玉米为主。根据前人对第 3 代棉铃虫的研究，玉米田的虫卵死亡率高于棉田 15%，玉米田前 3 龄幼虫死亡率分别高于棉田 7%，5% 和 3%，整个卵期和幼虫期的死亡率显著高于棉田，玉米上的棉铃虫在低龄期就大量死亡，而棉铃虫暴食期为 5 龄、6 龄，故大都认为玉米上的第 3 代棉铃虫不会造成很大的危害（丁岩钦等，1994）；也有研究表明，棉花上第 4 代棉铃虫平均有效越冬虫量为 84.87 头/百株，玉米上为 12.78 头/百株，若种植面积相等，棉田有效越冬虫量远高于玉米田（戈峰等，2001；Ge *et al.*，2005）。正因如此，Bt 棉大量推广使用之前，对玉米上棉铃虫的治理力度不大。

通过分析华北地区转基因棉花历史种植情况，从 1997 年至今，玉米的种植面积一直高于 Bt 棉，而且从 2004 年开始，玉米种植面积持续增加，而 Bt 棉种植面积持续减少，至 2010 年玉米种植面积比 Bt 棉种植面积多了 13 000 多公顷，玉米超越棉花成为越冬代棉铃虫最主要、最合适的寄主。从本研究结果看，取食玉米的棉铃虫抗寒性明显强于取食棉花的棉铃虫，就第 4 代（越冬代）棉铃虫而言，大量来自玉米上的棉铃虫提高了棉铃虫越冬的成功率，有利于棉铃虫虫源的保存，增加了第 2 年第 1 代棉铃虫的基数，极大地促进了棉铃虫的种群发展。由此，我们不难发现在新的 Bt 棉与玉米共存的农田景观格局下，Bt 棉对棉铃虫能起到一定的抑制作用，但玉米大面积的种植仍然可以引起棉铃虫的大暴发。因此，应积极调整害虫防治策略，更加重视玉米上棉铃虫，特别是玉米上第 4 代（越冬代）棉铃虫的防治，才能有效地治理这一重大害虫。

参考文献（References）

Chen C, Xia QW, Xiao HJ, Xiao L, Xu FS, 2014. A comparison of the life-history traits between diapause and direct development individuals in the cotton bollworm, *Helicoverpa armigera*. *Journal of Insect Science*, 14(19): 1 - 12.

Cui L, Mu JY, Xu YY, Zhang YM, 1998. Studies on pupae diapause of *Helicoverpa armigera* Hübner. *Journal of Shangdong Agricultural University*, 29(1): 46 - 50. [崔龙，牟吉元，许永玉，张韵梅，1998. 棉铃虫蛹滞育的研究. 山东农业大学学报，29(1)：46 - 50]

Cui SY, 2008. Research progress of trehalose metabolism in insects. *Journal of Anhui Agricultural Science*, 36(23): 9998 - 9999. [崔淑燕，2008. 昆虫中海藻糖代谢的研究进展. 安徽农业科学，36(23)：9998 - 9999]

Danks HV, 2007. The elements of seasonal adaptations in insects. *Canadian Entomologist*, 139(1): 1 - 44.

Ding YQ, Zhang ZC, 1994. Population dynamics of the third generation cotton bollworms in corn fields of North China with reference to its effect to cotton fields. *Acta Entomol. Sin.*, 37(3): 305 - 310. [丁岩钦，张占川，1994. 华北棉区玉米田三代棉铃虫种群动态及对棉田发生危害的作用分析. 昆虫学报，37(3)：305 - 310]

Dubois M, Gilles KA, Hamilton JK, Rebers PA, Smith F, 1956. Colorimetric method for determination of sugars and related

substances. *Analytical Chemistry*, 28: 350 - 356.

Feng YQ, Wang JL, Zong SX, 2014. Review of insects overwintering stages and cold-resistance strategies. *Chinese Agricultural Science Bulletin*, 30(9): 22 - 25. [冯宇倩, 王锦林, 宗世祥, 2014. 昆虫越冬虫态及耐寒策略概述. 中国农学通报, 30(9): 22 - 25]

Ge F, Chen F, Parajulee MN, Yardim EN, 2005. Quantification of diapausing fourth generation and suicidal fifth generation cotton bollworm, *Helicoverpa armigera*, in cotton and corn in northern China. *Entomologia Experimentalis et Applicata*, 116: 1 - 7.

Ge F, Ding YQ, Liu XH, Wang XZ, Zhao YF, 2001. The effective overwintering numbers from the 6th instar larvae of cotton bollworm. *Entomological Knowledge*, 38(3): 192 - 194. [戈峰, 丁岩钦, 刘向辉, 王学志, 赵永发, 2001. 棉铃虫老熟幼虫有效越冬虫量的分析. 昆虫知识, 38(3): 192 - 194]

Guo YY, 1997. Progress in the researches on migration regularity of *Helicoverpa armigera* and relationships between the pest and its host plants. *Acta Entomol. Sin*, 40 (2): 1 - 6.

Liu ZD, Gong PY, Wu KJ, Wei W, Sun JH, Li DM, 2007. Effects of larval host plants on over-wintering preparedness and survival of the cotton bollworm, *Helicoverpa armigera* (Hübner) (Lepidoptera: Noctuidae). *Journal of Insect Physiology*, 53(10): 1016 - 1026.

Luttrell RG, Fitt GP, Ramalho FS, Sugonyaev ES, 1994. Cotton pest management: Part 1. A worldwide perspective. *Annu. Rev. Entomol.*, 39(3): 517 - 526.

Ouyang F, Liu ZD, Yin J, Su JW, Wang CZ, Ge F, 2011. Effects of transgenic Bt cotton on overwintering characteristics and survival of *Helicoverpa armigera*. *Journal of Insect Physiology*, 57 (1): 153 - 160.

Tauber MJ, Tauber CA, Masaki S, 1986. Seasonal Adaptations of Insects. Oxford University Press, New York.

Jiang MX, Zhang XY, 1997. Diapause termination and post diapause development of overwintering pupae of cotton bollworm in Nanjing. *Acta Entomol. Sin.*, 40(4): 366 - 373. [蒋明星, 张孝羲, 1997. 南京地区棉铃虫越冬蛹滞育的解除与发育. 昆虫学报, 40(4): 366 - 373]

Wu KM, Guo YY, Wei JF, Sun FZ, 1997. On the cold hardiness of cotton bollworm *Helicoverpa armigera* (Hübner). *Acta Ecologica Sinica*, 17(3): 298 - 302. [吴孔明, 郭予元, 韦建福, 孙福在, 1997. 棉铃虫抗寒能力的研究. 生态学报, 17(3): 298 - 302]

Yang YT, Xie BY, Gao ZX, Liu ZD, Li DM, 2003. Effect of host plants on cold hardiness of overwintering pupae of the cotton bollworm, *Helicoverpa armigera*. *Entomological Knowledge*, 40 (6): 509 - 512. [杨燕涛, 谢宝瑜, 高增祥, 刘柱东, 李典谟, 2003. 寄主植物对棉铃虫越冬蛹抗寒能力的影响. 昆虫知识, 40(6): 509 - 512.]

Wu KM, Guo YY, 1995. Inducing factors of pupal diapause in *Helicoverpa armigera*. *Acta Phytophylacica Sinica*, 22(4): 331 - 336. [吴孔明, 郭予元, 1995. 棉铃虫滞育的诱导因素研究. 植物保护学报, 22(4): 331 - 336]

Ye LF, Fu X, Xie BY, Ge F, 2011. Larval host types for the 3rd *Helicoverpa armigera* in Bt cotton field from North China determined by δ13C. *Acta Ecologica Sinica*, 31(6): 1714 - 1719. [叶乐夫, 付雪, 谢宝瑜, 戈峰, 2011. 应用稳定同位素技术分析华北部分地区第三代棉铃虫虫源性质. 生态学报, 31(6): 1714 - 1719]

Yu CH, Lu D, Lin RH, Wang XJ, Jiang H, Zhao F, 2008. Trehalose - the blood sugar in insects. *Chinese Bulletin of Entomology*, 45(5): 832 - 837. [于彩虹, 卢丹, 林荣华, 王晓军, 姜辉, 赵飞, 2008. 海藻糖——昆虫的血糖. 昆虫知识, 45(5):832 - 837]

Zalucki MP, Murray DAH, 1994. Ecology of *Helicoverpa armigera* (Hübner) and *Heliothis punctigera* (Wallengren) in the Inland of Australia - larval sampling and host-plant relationships during winter and spring. *Australian Journal of Zoology*, 42(3): 329 - 346.

Zhang YH, Ling PX, Ji BP, 2005. Current status of research for trehalose and its prospective applications. *Food and Drug*, 7(3): 8 - 12. [张玉华, 凌沛学, 籍保平, 2005. 海藻糖的研究现状及其应用前景. 食品与药品, 7(3): 8 - 12]

（责任编辑：袁德成）